



(19)

Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11)

EP 0 918 464 B1

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des Hinweises auf die Patenterteilung:  
04.10.2001 Patentblatt 2001/40

(51) Int Cl.7: **A23C 9/20, A23C 9/142,  
A61K 35/20**

(21) Anmeldenummer: 97924895.2

(86) Internationale Anmeldenummer:  
**PCT/DE97/01003**

(22) Anmeldetag: **16.05.1997**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:  
**WO 97/43905 (27.11.1997 Gazette 1997/51)**

**(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON KOLOSTRALMILCHPRODUKTEN SOWIE DEREN VERWENDUNG**

PROCESS FOR PRODUCTION OF COLOSTRAL MILK PRODUCTS AND USE THEREOF

PROCEDE DE PRODUCTION DE PRODUITS TIRES DU LAIT COLOSTRAL ET UTILISATION DE CES PRODUITS

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC  
NL PT SE**

(30) Priorität: **17.05.1996 DE 19619990**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**02.06.1999 Patentblatt 1999/22**

(73) Patentinhaber:

- **Adler, Charlotte  
86161 Augsburg (DE)**
- **Achenbach, Michael  
94501 Aidenbach (DE)**

(72) Erfinder:

- **Adler, Charlotte  
86161 Augsburg (DE)**
- **Achenbach, Michael  
94501 Aidenbach (DE)**

(74) Vertreter: **Winter, Brandl & Partner  
Patent- und Rechtsanwaltskanzlei  
Alois-Steinecker-Strasse 22  
85354 Freising (DE)**

(56) Entgegenhaltungen:

<b>EP-A- 0 173 999</b>	<b>EP-A- 0 334 776</b>
<b>EP-A- 0 471 890</b>	<b>EP-A- 0 652 013</b>
<b>WO-A-93/08264</b>	<b>WO-A-95/00155</b>
<b>WO-A-95/10192</b>	<b>GB-A- 2 289 278</b>

EP 0 918 464 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingeleitet, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

**Beschreibung**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung entkaseinierter Kolostralmilchprodukte gemäß Anspruch 1, ein Kolostralmilchprodukt gemäß Anspruch 10, ein Getränk, welches Kolostralmilchprodukte enthält gemäß Anspruch 15, sowie die Verwendung von Kolostralmilchprodukten gemäß den Ansprüchen 16 und 17.

**[0002]** Es ist seit längerem bekannt, daß das Kolostrum - also die Vormilch - aller Säugetiere, einschließlich des Menschen, wertvolle Bestandteile enthält, die die Neugeborenen vor Infektionen schützen und weitere günstige Wirkungen aufweisen.

**[0003]** So beschreibt beispielsweise die EP-A-0 173 999 ein Verfahren zur Herstellung von Immunglobulinen aus Rinder- oder Humankolostralmilch, wobei eine Immunglobulinfraktion aus Rinder- oder Humankolostralmilch gewonnen wird, die sowohl in der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin zur Behandlung oder Prophylaxe von bakteriellen und viralen Darminfektionen geeignet ist.

**[0004]** So hat sich beispielsweise herausgestellt, daß die Kolostralmimmunglobuline gegen die Bakterien: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella, Staphylokokken, Enterokokken und Streptokokken sowie gegen die Viren: Varicellavirus, Cytomegalievirus, Rubellavirus, Herpesvirus und Rotavirus wirksam waren.

**[0005]** Hergestellt wurde eine derartige Kolostralmoglobulinfraktion durch Aufarbeiten von Kolostralmilch unter Ausfällen der Kaseine bei einem pH-Wert von 4,0 bis 5,5 und anschließendem Abfiltrieren des Kaseinkuchens durch Tangentialfiltration und nachfolgender Ultrafiltration mit einer Trenngrenze von 5 000 bis 80 000 Dalton.

**[0006]** Da der Keimgehalt in der rohen Kolostralmilch bei  $10^6$  bis  $10^8$  Keimen pro Milliliter liegen kann, beschäftigt sich die EP-A-0 471 890 mit einem Verfahren zur Gewinnung einer sterilfiltrierten, kaseinhaltigen Kolostralmilch, bei welchem das Rohkolostrum soweit angesäuert wird, daß das zunächst ausfallende Kasein wieder in Lösung geht und die erhaltene Lösung anschließend sterilfiltriert wird.

**[0007]** Dabei geht die Lehre der EP-A-0 471 890 davon aus, daß das Kasein selbst günstige therapeutisch anwendbare Eigenschaften hat, die besonders die Wirkung der Immunglobuline bei gastrointestinalen Störungen unterstützen. Gemäß diesem Stand der Technik werden beispielsweise aus dem Kasein opiatartige Wirkstoffe freigesetzt, die zur Hemmung der Darmbewegung und Förderung der Elektrolyt- und Wasserresorption führen. Daher ist es nach der Lehre der EP-A-0 471 890 wünschenswert, die Kolostralmilch möglichst wenig in ihrer Protein Zusammensetzung zu verändern, da sie geradezu optimal für die Prophylaxe und Therapie von gastrointestinalen Infektionen und Störungen zusammengesetzt ist.

**[0008]** Darüber hinaus beschreibt die WO 95/10192 ein Nährgetränk, auf Kolostrumbasis, welches die körperliche Leistungsfähigkeit und Erholung verbessert.

**[0009]** Ein derartiges Getränk wird hergestellt durch Entfetten des Kolostrums und anschließender Fällung und Abfiltrieren des Kaseins und Sterilfiltrieren der erhaltenen Kolostrummolke.

**[0010]** Ein derartiges Kolostralmilchprodukt hat jedoch den Nachteil, daß aufgrund der Kaseinpräzipitation viele günstige Bestandteile des Kolostrums wie etwa der Gehalt an Wachstumsfaktoren, beispielsweise IGF-1, IGF-2 oder TGF- $\beta$  vermindert ist und daher die Ausbeute eines derartigen Kolostralmilchproduktes bezogen auf das Rohkolostrum nur dürfte ausfällt, ja bisweilen bestimmte Wachstumsfaktoren wie IGF-2 und TGF- $\beta$  überhaupt nicht mehr nachgewiesen werden können.

**[0011]** Ausgehend von diesem Stand der Technik war es daher Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zur Verfügung zu stellen, welches die Herstellung eines weitgehend entkaseinierten Kolostralmilchproduktes erlaubt, welches insbesondere die im Kolostrum enthaltenen Wachstumsfaktoren möglichst quantitativ enthalten.

**[0012]** Die Lösung dieser Aufgabe erfolgt in verfahrenstechnischer Hinsicht durch die Merkmale des Anspruchs 1, bezüglich eines Produktes durch die Merkmale der Ansprüche 10 und 15, und verwendungstechnisch durch die Merkmale der Ansprüche 16 und 17.

**[0013]** Dadurch, daß das Kasein derart angesäuert wird, daß es in Lösung bleibt und anschließend eine Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von ca.  $10^6$  Dalton durchgeführt wird, wird einerseits das Rohkolostrum von Kasein befreit. Dies ist insbesondere für Allergiker und für Neurodermitiker erwünscht, da Kasein für diesen Personenkreis unerwünschte Nebenwirkungen haben kann. Andererseits erreicht man überraschenderweise durch die Ultrafiltration einen Gehalt von bis zu ca. 95% bezogen auf den Gehalt des Rohkolostrums an Wachstumsfaktoren, insbesondere an IGF-1.

**[0014]** Es ist bei dem erfindungsgemäßen Verfahren insbesondere überraschend, daß Kasein bei einer Molekularmasse von ca.  $150 \cdot 10^6$  Dalton und mit seiner riesigen Oberfläche im Wege einer Ultrafiltration abgetrennt werden kann, wobei die erwünschten niedermolekularen Bestandteile des Kolostrums, wie z. B. Wachstumsfaktoren und Peptide, nahezu quantitativ in das Filtrat überreten - also ohne an die riesige Proteinoberfläche des Kaseins gebunden zu werden.

**[0015]** Ein mittels des erfindungsgemäßen Verfahren hergestelltes Kolostralmilchprodukt ist für viele Anwendungen im therapeutischen und Lebensmittelergänzungsbereich nützlich. So hat sich beispielsweise bei der Untersuchung von Hochleistungssportlern ergeben, daß die Kreatinkinase im Serum, ein Indikator für die körperliche Belastung,

signifikant niedriger ist, wenn die Probanden das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in fester oder flüssiger Form eingenommen hatten, sowohl regelmäßig über einen längeren Zeitraum oder unmittelbar vor starker körperlicher Belastung.

**[0016]** Zu diesem Mechanismus ist zu sagen - ohne hierauf beschränkt zu sein, - daß die Kreatinkinase immer dann von Muskelzellen freigesetzt wird, wenn Muskelzellen in irgendeiner Form geschädigt sind. Eine derartige Schädigung tritt beispielsweise nach extremen körperlichen Belastungen auf, oder auch bei pathologischen Erscheinungsbildern wie beispielsweise Herzinfarkt oder Muskelerkrankungen. Mittlerweile ist in mehreren Studien gezeigt worden, darunter eine Doppelblindstudie während der Olympischen Winterspiele in Lillehammer mit dem finnischen Skiteam, daß Kolostralmilchprodukte die Konzentration der freien Kreatinkinase im Serum um 30 bis 40 Prozent erniedrigen, wodurch die Leistungsfähigkeit signifikant länger erhalten bleibt und sich die Regenerationszeit, also das Refraktärstadium der Muskulatur, merklich verkürzt.

**[0017]** Des Weiteren ist aus in vitro-Studien bekannt, daß das Kolostrum die Lebensfähigkeiten und das Wachstum verschiedener Zelltypen in der Zellkultur unterstützt, da es im wesentlichen vier Hauptfraktionen aufweist, nämlich:

eine Wachstumsfaktorfraktion, eine Immunglobolinfaktion, eine Enzymproteinfraktion sowie eine Vitamin- und

Peptidfraktion.

**[0018]** Es ist ferner aus Untersuchungen des Kolostrums bekannt, daß diese wesentlichen Bestandteile des Kolostrums im wesentlichen bei der Geburt des Kalbes ihren Höhepunkt erreichen und bereits 6-12 Stunden nach der Geburt bereits schon über die Hälfte ihres Gehaltes an wesentlichen Bestandteilen verloren hat und danach über die nächsten Tage stetig abfällt, wobei nach 3-4 Tagen nur noch Spuren vorhanden sind.

**[0019]** Es hat sich ferner herausgestellt, daß Kolostrumprodukte ohne weiteres bei sportlichen Veranstaltungen den Athleten gegeben werden können, da sie keinerlei Dopingsubstanzen enthalten.

**[0020]** Darüber hinaus hat sich herausgestellt, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt als Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel oder Kosmetikum sowie als Zusatz für Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel, Getränke oder Kosmetika eingesetzt werden kann.

**[0021]** Neben der Anwendung im Sport- und Extremsportbereich haben sich überragende therapeutische Erfolge bei der Behandlung der Neurodermitis ergeben. Hierzu wurde das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt bevorzugt in Liposomen eingeschlossen und zu einer Cremegrundlage gemischt und auf die befallenen Hautpartien der an Neurodermitis leidenden Patienten aufgebracht.

**[0022]** Zusätzlich wurde das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in Form eines Getränkes verabreicht.

**[0023]** Das Patientenkollektiv umfaßte 20 an Neurodermitis leidende Personen im Erwachsenenalter, die an neurodermitischen Erscheinungen, insbesondere auch in den Ellenbogen, litten. Die Patienten nahmen keinerlei Medikamente ein, sondern behandelten die befallenen Hautareale mit einer Creme, welche das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt enthielt. Die Konzentration des Kolostralmilchproduktes in der Creme betrug ca. 10 Gew.-%. Als Cremegrundlage diente z.B. Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl, Aqua dest.. Alternativ kann die Neurodermitis auch mit einer Liposomencreme behandelt werden, deren Liposomen das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt enthielten. Die Konzentration der Liposomen in der Cremegrundlage (z.B. Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl, Aqua dest.) betrug ca. 0,1 ml/g oder 10% Liposomen.

**[0024]** Die Behandlung wurde 14 Tage lang durchgeführt und dann vom behandelnden Arzt begutachtet. Hierbei stellte sich heraus, daß 18 von 20 Patienten einen nahezu 90-prozentigen Rückgang der neurodermitischen Hauterscheinungen aufwiesen. Sowohl die Liposomencreme als auch das oral verabreichte Kolostralmilchprodukt-Getränk wurden dann für 14 Tage abgesetzt und die neurodermitischen Exantheme erneut ärztlich begutachtet. Es stellte sich dann heraus, daß sämtliche Patienten mit überwiegendem Zurückgehen der Hautsymptome nach der ersten Kolostralmilchprodukt-Behandlungsperiode jetzt wieder an deutlichem neurodermitischen Ekzem litten.

**[0025]** Hierauf wurde erneut eine Behandlungsperiode von 14 Tagen angesetzt, während dieser die befallenen Hautpartien erneut mit der Creme oder Liposomencreme, die das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt in Liposomen eingeschlossen enthält, behandelt wurde und unterstützend 10 ml pro Tag eines Kolostralmilchprodukt-Getränk verabreicht und die Hauterscheinungen erneut ärztlich begutachtet wurden.

**[0026]** Hierbei stellte sich heraus, daß 17 von 20 Probanden, die an der Studie teilnahmen, wieder einen deutlichen Rückgang des neurodermitischen Ekzems aufwiesen.

**[0027]** Aus dieser Cross-over-Studie ist klar erkennbar, daß die Besserung der neurodermitischen Hauterscheinung auf das applizierte, erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt zurückzuführen ist.

**[0028]** Erste Studien über einen längeren Zeitraum von ca. 6 Monaten zeigen auch, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt, vorzugsweise in Form eines Dermatikums, insbesondere einer Creme, Lotion oder Salbe als Langzeittherapeutikum für die Hauterscheinungen der Neurodermitis geeignet ist.

**[0029]** Es wurde darüber hinaus eine Kontrollstudie mit Placebo-Liposomencreme durchgeführt, wobei die Cremegrundlage dieselbe war wie in der Versuchsgruppe, wobei die Liposomen jedoch lediglich physiologische Kochsalzlösung enthielten.

sung enthielten. Als Zusatzgetränkgabe wurde entkaseinierte Milch statt der erfindungsgemäßen Kolostralmolke verabreicht.

[0030] Innerhalb der Kontrollgruppe von 15 Probanden mit neurodermitischen Hauterscheinungen zeigten lediglich zwei signifikante Besserungen der Hauterscheinungen nach einem 14-tägigen Behandlungsintervall.

5 [0031] Durch dieses placebokontrollierte Experiment ist die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Kolostralmilchproduktes weiter gesichert.

[0032] Neben der bereits erwähnten ausdauersteigernden Wirkung und der günstigen Wirkung auf die Erholungsphase der Muskulatur und der oben nachgewiesenen Wirkung bei Neurodermitis, läßt sich das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch noch einsetzen als Bestandteil von Babynahrung, diätetischer Nahrung, klinischer Nahrung, insbesondere Sondennahrung, sowie bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Allergien, insbesondere Heuschnupfen, Pollenallergien, Herzinfarkten und muskulären Erkrankungen während der Rehabilitation. Diese Wirkungen zeigen sich insbesondere an der Senkung der Kreatinkinase, was eine Indikation für eine Erholungsphase der Muskulatur ist. Es hat sich ferner herausgestellt, daß die erfindungsgemäßen Kolostralmilchprodukte sich zur Unterstützung von Leber- und Knochenerkrankungstherapien eignen.

10 [0033] Ferner hat das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch günstige Wirkung zur Prophylaxe und Unterstützung viraler, bakterieller und mykotischer Infektionen sowie generell zur Unterstützung und Stärkung des Immunsystems, was sich durch den erhöhten Gehalt an Immunglobulinen, insbesondere IgG, IgA IgE und IgM erklärt. Weiterhin spielt auch das TGF- $\beta$  eine nicht unwichtige Rolle im Immunsystem, da TGF- $\beta$  auf die  $\beta$ -Lymphozyten wirkt und einen Switch von IgE zu IgA bewirkt und eine Wirkung auf die Immunstimulanz hat.

15 [0034] Darüber hinaus hat sich herausgestellt, daß das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt auch günstige Auswirkungen auf die Wundheilung hat, insbesondere bei postoperativer Nachsorge oder auch kleineren Verletzungen, bei oraler und zusätzlich lokaler topischer Anwendung.

[0035] Die Unteransprüche stellen bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung dar.

[0036] Weitere Vorteile und Merkmale ergeben sich anhand der Beschreibung von Ausführungsbeispielen.

25

### Beispiel 1

[0037] 20 Liter entfettete Rinderkolostralmilch, die in den ersten 24 Stunden nach der Geburt des Kalbes gewonnen wurden, wurden bei + 4°C durch Zugabe von 60 mMol EDTA und anschließend von 365 ml HCl auf pH 2,54 gebracht. 30 Diese pH-abgesenkte Rinderkolostralmilch wurde im Anschluß bei einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei die Temperatur konstant bei + 4°C bis + 8°C gehalten wurde. Es wurde dabei ein Filtermodul der Firma Millipore 1000 KD aus Zelluloseacetat wegen seiner geringen Proteinbindung verwendet. Es wurden dabei 10 L Permeat gewonnen. Die Ausbeute betrug bei dieser Vorgehensweise 50%. Nach der Ultrafiltration wurde das klare Permeat mit 250 ml NaOH auf pH 6,2 angehoben. Die dabei entstandene leichte Trübung wurde durch Zentrifugation beseitigt. Das nun klare Permeat wurde mit 10 L Aqua dest. verdünnt und einer weiteren Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1000 Da unterzogen, um das bei der pH-Absenkung und anschließenden pH-Anhebung entstandene Salz zu entfernen. Dies hat auch eine gleichzeitige Entzuckerung zur Folge. Wiederum wurde das Rinderkolostralmilchprodukt konstant bei einer Temperatur von + 4°C bis + 8°C gehalten und solange ultrafiltriert, bis die Ausgangsmenge von 10 Liter Retentat erreicht wurde. Dieses Retentat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22 40  $\mu$ m sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt.

[0038] Das nach dem erfindungsgemäßen Verfahren erhaltenes Kolostralmilchprodukt hatte die folgende analytisch erfaßte Zusammensetzung gemäß Tab. 1.

45 [0039] Besonders auffallend ist der hohe Anteil an Immunglobulinen und Wachstumsfaktoren, insbesondere IGF-1. [0040] Ein derartiges Kolostralmilchprodukt kann direkt als Getränk verwendet werden oder kann zu unterschiedlichen Nahrungsmitteln zugesetzt werden, so beispielsweise auch zu Backwaren, insbesondere zu energiehaltigen Riegeln, bevorzugt zu sogenannten Powerbars. Der Zusatz zu Backwaren oder Riegeln erfolgt bevorzugt nach einer Sprühtrocknung oder einer Gefriertrocknung.

50

Tabelle 1

55

Energiegehalt	80,0 kJ/100g
pH	6,16
Osmolarität	264,0 mOsm/kg
Gesamtprotein	0,3 g/l
Trockensubstanz	5,24 g/l
Asche	0,68 mg/100 ml

Tabelle 1 (fortgesetzt)

5	Laktose	0,2 mg/100 ml
	Glukose	10,0 mg/100 ml
	Gesamtkohlenhydrate	20,0 g/l
	Fett	<0,03 mg/100 ml
<b>VITAMINE</b>		
10	Vitamin A	<150,0 µg/100 ml
	Thiamin (Vit. B1)	63,5 µg/100 ml
	Riboflavin (Vit. B2)	620,0 µg/100 ml
	Pyridoxin (Vit. B6)	3500,0 µg/100 ml
15	Cobalamin (Vit. B12)	0,034 µg/100 ml
	Folsäure	2,65 µg/100 ml
	Vitamin C	270,0 µg/100 ml
	Cholecalciferol (Vit.D3)	0,28 µg/100 ml
20	Tocopherol (Vit. E)	30,0 µg/100 ml
	Vitamin K	0,054 µg/100 ml
	Ubichinon (Vit.Q 10)	5,4 µg/100 ml
<b>IONEN</b>		
25	Natrium (Na)	943,7 mg/l
	Kalium (K)	1883,5 mg/l
	Kalzium (Ca)	490,52 mg/l
30	Magnesium (Mg)	147,98 mg/l
	Eisen (Fe)	0,02 mg/l
	Kupfer (Cu)	0,004 mg/l
	Zink (Zn)	0,30 mg/l
35	Chrom (Cr)	0,0014 mg/l
	Phosphor (P)	498,0 mg/l
	Selen (Se)	0,018 mg/l
<b>ORGANISCHE MOLEKÜLE</b>		
40	Kreatinin	17,2 mg/l
<b>FREIE AMINOSÄUREN</b>		
45	Alanin	6,60 mg/l
	Arginin	0,0056 mg/l
	Tryptophan	2,66 mg/l
50	Cystin	<0,27 mg/l
	Methionin	1,03 mg/l
	Phosphoserin	1,05 mg/l
	Taurin	<0,363 mg/l
55	Phosphoethanolamin	7,31 mg/l
	Asparaginsäure	4,85 mg/l
	Threonin	0,00014 mg/l

Tabelle 1 (fortgesetzt)

<b>VITAMINE</b>	
<b>FREIE AMINOSÄUREN</b>	
5	Serin 4,85 mg/l
	Glutaminsäure 9,44 mg/l
10	Glutamin 7,99 mg/l
	Prolin 7,37 mg/l
	Glycin 4,85 mg/l
15	Alanin 6,6 mg/l
	Citrullin 1,05 mg/l
	Valin 11,13 mg/l
	Isoleucin 4,85 mg/l
20	Leucin 9,44 mg/l
	Tyrosin 3,26 mg/l
	Phenylalanin 4,95 mg/l
	$\beta$ -Alanin <0,27 mg/l
25	$\beta$ -Aminoisobuttersäure 1,03 mg/l
	Ornithin 0,53 mg/l
	Lysin 7,99 mg/l
<b>IMMUNGLOBULINE</b>	
30	IgG 98,0 mg/100 ml
	IgA 3,0 mg/100 ml
	IgM 2,0 mg/100 ml
	IgE 0,026 $\mu$ g/100 ml
<b>NATÜRLICHE WACHSTUMS-FAKTOREN</b>	
35	IGF-1 (Somatomedin C) 380,0 ng/ml
	IGF-2 242,0 ng/ml
	TGF- $\beta$ 35,0 ng/ml

40 **Beispiel 2**

**[0041]** Es wurde bei der pH-Absenkung, Ultrafiltration, pH-Anhebung und Zentrifugation wie in Beispiel 1 verfahren. Danach wurden, um die Ausbeute zu vergrößern 10 L Aqua dest. hinzugefügt, die vorher ebenfalls auf pH 2,54 gebracht wurden. Die Ultrafiltration wurde fortgesetzt und es wurden nochmals 10 L Permeat gewonnen. Dieses Permeat wurde zusammen mit dem Permeat der 1. Ultrafiltration, und zusätzlich 10 Litern Aqua dest. mit einer Ausschlußmolekularmasse von 500 Da ultrafiltriert, wobei eine Ultrafiltrationsmembran der Firma Amicon verwendet wurde. Auch hier wurde die Temperatur konstant auf + 4°C bis + 8°C gehalten. Es wurde so lange ultrafiltriert, bis 15 L Retentat übrig blieben. Dadurch konnte die Ausbeute auf 75% erhöht werden. Dieses Retentat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22  $\mu$ m sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

50 **Vergleichsbeispiel 1**

**[0042]** 20 L entfettete Kolostralmilch wurden leicht erwärmt (ca. 38°C) und mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Dabei verklumpte das Kasein und war mit einem Sieb und einer anschließenden Zentrifugation leicht zu entfernen. Eine Trübung der Molke war dabei nicht zu verhindern. Anschließend wurde die Molke mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurden 7 L Permeat gewonnen, die mit 80 ml NaOH auf pH 6,2 gebracht wurden. Es entstand wieder eine leichte Trübung, die mit einer

Zentrifugation entfernt werden konnte. Das Permeat wurde nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

5 **Vergleichsbeispiel 2**

[0043] 20 L entfettete Kolostralmilch wurden leicht erwärmt (ca. 38°C) und mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Dabei verklumpte das Kasein und war mit einem Sieb und einer anschließenden Zentrifugation leicht zu entfernen. Anschließend wurde der pH mit 100 ml NaOH wieder auf pH 6,2 gebracht und mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurde 7 L Permeat gewonnen. Diese wurden im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

15 **Vergleichsbeispiel 3**

[0044] 20 L entfettete Kolostralmilch wurden bei + 4°C bis + 8°C mit 240 ml HCl auf pH 4,5 abgesenkt. Hierbei wurde festgestellt, daß das Kasein nur unzureichend verklumpte. Es konnte keine richtige Molke gewonnen werden. Das geronnene Kasein wurde abzentrifugiert und die restliche Milch wurde mit einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Das dabei entstandene Permeat (8,5 L) wurde mit 100 ml NaOH auf pH 6,3 gebracht und die Trübung wurde wiederum abzentrifugiert. Das Permeat wurde im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

25 **Vergleichsbeispiel 4**

[0045] 20 L entfettete Kolostralmilch wurden ohne Vorbehandlung direkt bei einer Ausschlußmolekularmasse von 1 000 000 Da ultrafiltriert, wobei ein Modul der Firma Millipore verwendet wurde. Es wurden 10 L Permeat gewonnen. Diese wurden im Anschluß nach herkömmlicher Methode bei 0,22 µm sterilfiltriert. Es mußten keine Vorfilter verwendet werden. Das Produkt war leicht sterilfiltrierbar. Im Anschluß wurde eine Analyse erstellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

[0046] Bei dem Beispiel 2 und den Vergleichsbeispielen wurden nur die IGF-1- und die TGF-β-Konzentrationen und das Immunglobulin G bestimmt, die folgende Werte enthielten:

35 Tabelle 2

	IGF-1 (ng/ml)	TGF-β (ng/ml)	IgG (mg/100 ml)
Beispiel 2	371	30	87
Vergleichsbeispiel 1	81	Spuren	43
Vergleichsbeispiel 2	48	nicht nachweisbar	25
Vergleichsbeispiel 3	63	nicht nachweisbar	35
Vergleichsbeispiel 4	23	nicht nachweisbar	15

45 [0047] Aus diesen Ergebnissen ergab sich eindeutig, daß eine pH-Absenkung mit anschließender Ultrafiltration, ohne daß der pH-Wert vor der Ultrafiltration wieder angehoben wird bessere Ergebnisse zeigt, als z.B. eine Ultrafiltration ohne pH-Absenkung. Es ergab sich ferner, daß eine pH-Absenkung auf ca. 4,5 ebenfalls kein zufriedenstellendes Ergebnis bringt, da sowohl bei pH 4,5 nicht alle Proteine in Lösung gehen, als auch bei der Entfernung des geronnenen Kaseins viele wertvolle Proteine mitgerissen werden. Weiterhin spielt die Temperatur ebenfalls eine wichtige Rolle, da eine Erhöhung der Temperatur eine Ultrafiltration nicht möglich macht, da das Kolostrum dabei verdickt.

50 [0048] Lediglich die in Beispiel 1 und 2 angegebenen Verfahren zeigten zufriedenstellende Ergebnisse.

**Vergleichsbeispiel 5**

55 [0049] Zum weiteren Vergleich mit einem Produkt gemäß der vorliegenden Erfindung wurde von denselben Ausgangsmengen an Rohkolostrum wie in Beispiel 1 ausgegangen und wie oben beschrieben entfettet, das entfettete Rohkolostrum wurde dann jedoch auf einen pH-Wert von ca. 4,5 eingestellt und über einen Mikrofilter mit einer Po-

rengroße von ca. 5 µm abgetrennt. Das erhaltene Molkefiltrat wurde dann mittels Zugabe von Natriumhydroxid auf einen pH-Wert von ca. 7 eingestellt und anschließend steril filtriert.

[0050] Die Analyse eines derartigen Kolostralmilchproduktes gemäß dem Stand der Technik ist in Tabelle 3 gezeigt.

[0051] Ein Vergleich der Wachstumsfaktorenfraktion zeigt einen etwa um 100% niedrigeren Gehalt an IGF-1 und nicht meßbare Werte an IGF-2 und TGF-β. Das erfindungsgemäße Kolostralmilchprodukt hat somit einen signifikant höheren Gehalt an den für die günstigen pharmakologischen und vitalen Wirkungen erforderlichen Wachstumsfaktoren und weist ferner einen deutlich höheren Immunglobulingehalt auf.

**Vergleichsbeispiel 5**

10

[0052]

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Tabelle 3

5	Energiegehalt	80,0 kJ/100g
	pH	6,55
	Osmolarität	418,0 mOsm/kg
	Gesamtprotein	0,43 g/100 ml
10	Trockensubstanz	5,24 g/100 ml
	Asche	0,82 g/100 ml
	Laktose	<0,5 g/100 ml
	Glukose	1,91 g/100 ml
	Gesamtkohlenhydrat	4,0 g/100 l
15	Fett	<0,02 g/100 ml
	IgG	0,039 g/100 ml
	<b>VITAMINE</b>	
20	Thiamin (Vit. B1)	40,0 µg/100 ml
	Riboflavin (Vit. B2)	180,0 µg/100 ml
	Pyridoxin (Vit. B6)	12,0 µg/100 ml
	Cobalamin (Vit. B12)	0,041 µg/100 ml
25	Folsäure	4,2 µg/100 ml
	Nicotinamid	83,0 µg/100 ml
	Panthotensäure	300,0 µg/100 ml
	<b>IONEN</b>	
30	Natrium (Na)	1498,9 mg/l
	Kalium (K)	1599,2 mg/l
	Kalzium (Ca)	280,15 mg/l
	Magnesium (Mg)	109,88 mg/l
35	Eisen (Fe)	<0,22 mg/l
	Kupfer (Cu)	<0,05 mg/l
	Mangan (Mn)	<0,05 mg/l
	Zink (Zn)	<0,05 mg/l
40	Chrom (Cr)	<0,01 mg/l
	Phosphor (P)	480,0 mg/l
	Selen (Se)	0,002 mg/l
	<b>ORGANISCHE MOLEKÜLE</b>	
45	Kreatinin	34,4 mg/l
	Kreatin	127,0 mg/l
50	<b>FREIE AMINOSÄUREN</b>	
55	Arginin	5,6 mg/l
	Tryptophan	<6,1 mg/l
	Cystin	<0,7 mg/l
	Methionin	1,0 mg/l
	Phosphoserin	9,06 mg/l

EP 0 918 464 B1

5	Taurin	115,0 mg/l
	Phosphoethanolamin	27,37 mg/l
	Asparaginsäure	2,66 mg/l
	Threonin	3,1 mg/l
	Serin	5,04 mg/l
10	Glutaminsäure	37,0 mg/l
	Glutamin	7,31 mg/l
	Prolin	7,37 mg/l
	Glycin	4,85 mg/l
	Alanin	6,6 mg/l
	Citrullin	1,05 mg/l
15	Valin	11,13 mg/l
	Isoleucin	4,85 mg/l
	Leucin	9,44 mg/l
	Tyrosin	3,26 mg/l
	Phenylalanin	4,95 mg/l
20	β-Alanin	<0,27 mg/l
	β-Aminoisobuttersäure	1,03 mg/l
	Ornithin	0,53 mg/l
	Lysin	7,99 mg/l
25	Histidin	1,4 mg/l
	<b>NATÜRLICHE WACHSTUMS-FAKTOREN</b>	
30	IGF-1 (Somatomedin C)	70,0 ng/ml
	IGF-2	nicht erfaßbar
	TGF-β	nicht erfaßbar

Beispiel 3

35 **[0053]** Das Kolostralmilchprodukt gemäß Beispiel 1 wird nach bekannten Verfahren in Liposomen eingeschlossen und in eine Cremegrundlage (im Beispielsfalle Soja-Öl, Tegomuls, Vitamin E + A, Cholesterol, HSA, Contrex, Carotin DF + HF, Orangenblüten-Öl, Melissen-Öl, Mandarinen-Öl, Neroli-Öl und Aqua dest. mit einem Liposomengehalt von 0,1 ml/g (10%)) eingebracht.

40 **[0054]** Eine derartige Liposomencreme wurde verwendet, um ihre Einwirkungen auf die Wundheilung und auf neurodermitische Ekzeme zu untersuchen.

45 **[0055]** Wie bereits eingangs beschrieben, zeigte sich eine signifikante Besserung des gesamten dermatologischen Erscheinungsbildes der Neurodermitis in einer placebokontrollierten Cross-over-Studie, wobei in der Versuchsgruppe 20 Probanden teilnahmen und in der Kontrollgruppe 15 Probanden teilnahmen.

50 **[0056]** Somit steht mit der vorliegenden Erfindung erstmals ein Verfahren zu Verfügung, mit dem es möglich ist, die wichtigsten Bestandteile der Kolostralmilch nahezu quantitativ in ein Kolostralmilchprodukt zu überführen, welches dann hohe Gehalte an Wachstumsfaktoren und Immunglobulinen aufweist.

55 **[0057]** Selbstverständlich ist es möglich, gezielte Fraktionen, beispielsweise immunglobulinangereicherte Fraktionen und/oder Wachstumsfaktorfraktionen zu erhalten, die dann gegebenenfalls separat entweder oral appliziert werden können oder jedoch in Liposomen eingeschlossen werden können und dann in Form von Cremes, Pasten oder Salben oder Emulsionen auf die Haut aufgetragen werden können.

60 **[0058]** Erreicht wird eine derartige Fraktionierung des erfindungsgemäßen Kolostralmilchproduktes durch weitere Ultrafiltrationen mit definierten Ausschlußmolekularmassen von 300 kDa und/oder 150 kDa und/oder 100 kDa und/oder 50 kDa und/oder 30 kDa und/oder 20 kDa und/oder 10 kDa und/oder 5 kDa und/oder 1 kDa und/oder 0,5 kDa.

65 **[0059]** Weiterhin kann es vorteilhaft sein, den pH vor einer weiteren Fraktionierung wieder anzuheben, wenn man z.B. eine Entsalzung bei 1 kDa oder 0,5 kDa vornimmt, um die Moleküle wieder so groß zu machen, daß sie nicht mit durch den Filter gehen. Ob eine pH-Anhebung durchgeführt werden sollte oder nicht, hängt also weitgehend davon ab, was man mit weiteren Fraktionierungen erreichen will.

70 **[0060]** Welche Ausschlußmolekularmasse der Fachmann wählt, hängt ebenfalls davon ab, welche weiteren Frak-

tionen er aus dem erfindungsgemäßen Kolostralmilchprodukt erhalten möchte.

### Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zur Herstellung eines wenigstens weitgehend entkaseinierten Kolostralmilchproduktes, wobei
  - 10 Rohkolostrum entfettet wird;
  - 15 derart angesäuert wird, daß Kasein in Lösung bleibt; und
  - 20 eine Ultrafiltration mit einer Ausschlußmolekularmasse von ca.  $10^6$  Da durchgeführt wird.
- 25 2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** man das erhaltene Produkt mit weiteren Ultrafiltrationsstufen in unterschiedliche Molekularmassenbereiche fraktioniert.
- 30 3. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, daß** man die weiteren Ultrafiltrationsstufen mit einer Ausschlußmolekularmasse von 300 kDa und/oder 150 kDa und/oder 100 kDa und/oder 50 kDa und/oder 30 kDa und/oder 20 kDa und/oder 10 kDa und/oder 5 kDa und/oder 1 kDa und/oder 0,5 kDa, durchführt.
- 35 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, daß** man den pH-Wert nach dem ersten Ultrafiltrationsschritt und nach den weiteren Ultrafiltrationsstufen auf den pH-Wert des Rohkolostrums, insbesondere auf einen pH von ca. 3,0 bis 6,9, vorzugsweise ca. 4,0 bis 5,5, besonders bevorzugt ca. 4,6 einstellt.
- 40 5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** man zum Ansäuern und/oder zur pH-Einstellung Salzsäure, Phosphorsäure, Milchsäure und/oder Zitronensäure verwendet.
- 45 6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** man die jeweils erhaltenen Produkte, insbesondere durch reverse Osmose, durch Ultrafiltration mit ca. 1 kDa oder ca. 0,5 kDa und/oder durch Dialyse entsalzt.
- 50 7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** man die Produkte entzuckert, wobei enzymatisch und/oder über Ultrafiltration entzuckert wird.
- 55 8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet, daß** man dem erhaltenen Produkt Additive, insbesondere Vitamine, Aromastoffe, Geschmacksverbesserer, Konservierungsstoffe usw. zusetzt.
10. Wenigstens weitgehend entkaseiniertes Kolostralmilchprodukt,  
**dadurch gekennzeichnet, daß**  
 es nach einem Verfahren gemäß wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 9 erhältlich ist.
11. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet, daß** es wenigstens ca. 75 ng/ml IGF-1 enthält.
12. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10 oder 11, **dadurch gekennzeichnet, daß** es, bezogen auf das Rohkolostrum, ca. 50 bis 95%, insbesondere ca. 60 bis 95%, vorzugsweise ca. 70 bis 95%, besonders bevorzugt ca. 80 bis 95%, insbesondere bevorzugt wenigstens ca. 90% der im Rohkolostrum vorhandenen Wachstumsfaktoren enthält.
13. Kolostralmilchprodukt nach Anspruch 10 bis 12, **dadurch gekennzeichnet, daß** es bovinen oder equinen Ursprungs ist.
14. Kolostralmilchprodukt nach einem der Ansprüche 10 bis 13, **dadurch gekennzeichnet, daß** es in flüssiger, fester, pastöser oder in mikroverkapselter Form, insbesondere in Liposomen eingeschlossen, vorliegt.

15. Getränk, **dadurch gekennzeichnet, daß** es ein Kolostralmilchprodukt gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 enthält.
- 5 16. Verwendung eines Kolostralmilchproduktes gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 zur Herstellung eines Arzneimittels, Nahrungsergänzungsmittels oder Kosmetikums.
17. Verwendung eines Kolostralmilchproduktes gemäß wenigstens einem der Ansprüche 10 bis 14 als Zusatz für Arzneimittel, Nahrungsergänzungsmittel, Getränke oder Kosmetika.
- 10 18. Verwendung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Kolostralmilchprodukt als Bestandteil von Babynahrung, diätetischer Nahrung, klinischer Nahrung, insbesondere Sondennahrung, verwendet wird.
- 15 19. Verwendung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Kolostralmilchprodukt zur Herstellung eines Arzneimittels zur wenigstens unterstützenden Behandlung von Neurodermitis, Wundheilung, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Allergien, insbesondere Heuschnupfen, Pollenallergien; Herzinfarkten und muskulären Erkrankungen während der Rehabilitation, sowie zur unterstützenden Behandlung von Leber- und Knochenerkrankungen, verwendet wird.
- 20 20. Verwendung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Kolostralmilchprodukt zur Herstellung eines Mittels zum Muskelzellschutz, zur Abkürzung der muskulären Erholungsphase, insbesondere im Sportbereich, zur Prophylaxe und Unterstützung viraler, bakterieller und mykotischer Infektionen, sowie zur Stärkung des Immunsystems, verwendet wird.
- 25 21. Verwendung nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Kolostralmilchprodukt als Zusatz zu Backwaren, insbesondere energiehaltigen Riegeln, Müsliriegeln oder Powerbars, verwendet wird.

#### Claims

- 30 1. A process for preparing a colostral milk product which is at least largely decaseinated, wherein raw colostrum is defatted;
- 35 acidified such that casein remains in solution; and ultrafiltration with an exclusion molecular mass of approx.  $10^6$  Da is performed.
2. The process according to claim 1, **characterized in that** the obtained product is fractionated into different molecular mass ranges through additional ultrafiltration steps.
- 40 3. The process according to claim 2, **characterized in that** the additional ultrafiltration steps are performed with an exclusion molecular mass of 300 kDa and/or 150 kDa and/or 100 kDa and/or 50 kDa and/or 30 kDa and/or 20 kDa and/or 10 kDa and/or 5 kDa and/or 1 kDa and/or 0.5 kDa.
- 45 4. The process according to any one of claims 1 to 3, **characterized in that** after the first ultrafiltration step and after the additional ultrafiltration steps, the pH value is adjusted to the pH value of the raw colostrum, in particular to a pH of approx. 3.0 to 6.9, preferably approx. 4.0 to 5.5, more preferably approx. 4.6.
- 50 5. The process according to any one of the preceding claims, **characterized by** use of hydrochloric acid, phosphoric acid, lactic acid and/or citric acid for acidification and for pH adjustment.
6. The process according to any one of the preceding claims, **characterized in that** the respective obtained products are desalinated by reverse osmosis, by ultrafiltration with approx. 1 kDa or approx. 0.5 kDa and/or by dialysis.
- 55 7. The process according to any one of the preceding claims, **characterized in that** the products are desugared, with desugaring being performed enzymatically and/or through ultrafiltration.
8. The process according to any one of the preceding claims, **characterized in that** additives, in particular vitamins,

flavoring agents, flavor improving agents, preservatives, etc. are added to the obtained product.

9. The process according to any one of the preceding claims, **characterized in that** the obtained products are sterilized, in particular filtration sterilized.

5 10. A colostral milk product which is at least largely decaseinated, **characterized in that**

it is obtainable through a process according to at least one of claims 1 to 9.

10 11. The colostral milk product according to claim 10, **characterized in that** it contains at least 75 ng/ml of IGF-1.

12. The colostral milk product according to claim 10 or 11, **characterized in that** relative to the raw colostrum it contains approx. 50 to 95%, in particular approx. 60 to 95%, preferably approx. 70 to 95%, more preferably approx. 80 to 95%, in a particularly preferred manner at least approx. 90% of the growth factors present in the raw colostrum.

15 13. The colostral milk product according to claim 10 to 12, **characterized in that** it is of bovine or equine origin.

14. The colostral milk product according to any one of claims 10 to 13, **characterized in that** it is present in liquid, solid, pasty or microencapsulated form, in particular enclosed in liposomes.

20 15. Beverage, **characterized in that** it contains a colostral milk product in accordance with at least one of claims 10 to 14.

25 16. Use of a colostral milk product according to at least one of claims 10 to 14 as a medicament, food supplement or cosmetic preparation.

17. Use of a colostral milk product according to at least one of claims 10 to 14 as an additive for medicaments, food supplements, beverages or cosmetic preparations.

30 18. Use according to claim 17, **characterized in that** the colostral milk product is used as an ingredient of baby food, dietetic food, clinical food, in particular food for tube feeding.

35 19. Use according to claim 17, **characterized in that** the colostral milk product is used as a medicament for at least supporting treatment of neurodermatitis, wound healing, rheumatoid conditions, allergies, in particular hay fever, pollen allergies; cardiac infarctions and muscle ailments during rehabilitation, and for supporting treatment of liver and bone ailments.

40 20. Use according to claim 17, **characterized in that** the colostral milk product is used for the protection of muscle cells, for shortening the muscular recovery period, for prophylaxis and support in viral, bacterial and mycotic infections, and for fortifying the immune system.

45 21. Use according to claim 17, **characterized in that** the colostral milk product is used as an additive for pastry and confectionery, in particular energy-containing bars, granola bars or power bars.

#### Revendications

1. Procédé de production d'un produit tiré du lait colostral étant au moins en grande partie décaséiné, où

50 le colostrum cru est dégraissé;

acidifié de telle sorte que la caséine reste en solution; et où

une ultrafiltration avec une masse moléculaire d'exclusion d'environ 106 Da est exécutée.

55 2. Procédé selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** l'on fractionne le produit obtenu avec d'autres étapes d'ultrafiltration dans différentes gammes de masses moléculaires.

3. Procédé selon la revendication 2, **caractérisé en ce que** l'on exécute les autres étapes d'ultrafiltration avec une masse moléculaire d'exclusion de 300 kDa et/ou 150 kDa et/ou 100 kDa et/ou 50 kDa et/ou 30 kDa et/ou 20 kDa et/ou 10 kDa et/ou 5 kDa et/ou 1 kDa et/ou 0,5 kDa.

5. 4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** l'on ajuste la valeur pH après la première ultrafiltration et après les autres étapes d'ultrafiltration à la valeur pH du colostrum cru, en particulier à un pH d'env. 3,0 à 6,9, de manière préférentielle d'env. 4,0 à 5,5, de manière particulièrement préférée d'env. 4,6.

10. 5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** l'on utilise de l'acide chlorhydrique, de l'acide phosphorique, de l'acide lactique et/ou de l'acide citrique pour acidifier et/ou pour ajuster le pH.

15. 6. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** l'on dessale chaque fois les produits obtenus en particulier par osmose inverse, par ultrafiltration avec env. 1 kDa ou env. 0,5 kDa et/ou par dialyse.

20. 7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** l'on enlève le sucre des produits, ceci étant fait de manière enzymatique et/ou par ultrafiltration.

25. 8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** l'on ajoute au produit obtenu des additifs, en particulier des vitamines, des arômes, des améliorateurs de goût, des agents conservateurs, etc.

9. Procédé selon l'une des revendications précédentes, **caractérisé en ce que** l'on stérilise les produits obtenus, en particulier par filtration stérilisatrice.

10. Produit tiré du lait colostral au moins en grande partie décaséiné  
**caractérisé en ce que**  
celui-ci est obtenu d'après un procédé selon au moins l'une des revendications 1 à 9.

11. Produit tiré du lait colostral selon la revendication 10, **caractérisé en ce qu'il** contient au moins env. 75 ng/ml IGF-1.

30. 12. Produit tiré du lait colostral selon la revendication 10 ou 11, **caractérisé en ce que** celui-ci contient, par rapport au colostrum cru, env. 50 à 95%, en particulier env. 60 à 95%, de préférence env. 70 à 95%, de manière préférée env. 80 à 95%, de manière particulièrement préférée au moins env. 90% des facteurs de croissance présents dans le colostrum cru.

35. 13. Produit tiré du lait colostral selon la revendication 10 à 12, **caractérisé en ce que** celui-ci est d'origine bovine ou chevaline.

40. 14. Produit tiré du lait colostral selon l'une des revendications 10 à 13, **caractérisé en ce que** celui-ci est présent sous forme liquide, solide, pâteuse, microencapsulée, en particulier enfermé dans des liposomes.

15. Boisson, **caractérisée en ce que** celle-ci contient un produit tiré du lait colostral d'après au moins une des revendications 10 à 14.

45. 16. Utilisation d'un produit tiré du lait colostral d'après au moins une des revendications 10 à 14 en tant que médicament, produit complémentaire d'alimentation ou produit cosmétique.

17. Utilisation d'un produit tiré du lait colostral d'après au moins une des revendications 10 à 14 en tant qu'additif pour des médicaments, des produits complémentaires d'alimentation, des boissons ou des produits cosmétiques.

50. 18. Utilisation selon la revendication 17, **caractérisée en ce que** le produit tiré du lait colostral est utilisée en tant qu'ingrédient d'aliments pour bébés, d'aliments diététiques, d'aliments cliniques, en particulier pour l'alimentation par sonde.

55. 19. Utilisation selon la revendication 17, **caractérisée en ce que** le produit tiré du lait colostral est utilisé en tant que médicament qui soutienne tout au moins le traitement des neurodermites, de la cicatrisation, des maladies rhumatismales, des allergies, en particulier du rhume des foins, des allergies au pollen; des infarctus du myocarde et des maladies musculaires pendant la réhabilitation, ainsi que pour soutenir le traitement des maladies du foie et des os.

20. Utilisation selon la revendication 17, **caractérisée en ce que** le produit tiré du lait colostral est utilisé pour la protection cellulaire des muscles, pour raccourcir la phase de repos musculaire, en particulier dans le domaine du sport, pour agir prophylactiquement et soutenir les traitements des infections virales, bactérielles et mycosiques, ainsi que pour fortifier le système immunitaire.

5

21. Utilisation selon la revendication 17, **caractérisée en ce que** le produit tiré du lait colostral est utilisé en tant qu'additif dans la pâtisserie, en particulier dans les barres énergétiques, les barres de muesli ou les powerbars.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

## VERIFICATION OF TRANSLATION

RE: EUROPEAN PATENT APPLICATION 97924895.2 / 0 918 464  
National Phase UK

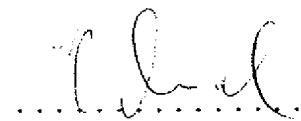
I, Helmut Madl, translator for

Winter, Brandl, Fürniss, Hübner, Röss, Kaiser,  
Polte • Partnerschaft  
Patent Attorneys and Attorneys at Law  
of 85354 Freising, Germany,

do hereby declare that I am conversant with the German and English languages, and I certify that the following translation is to the best of my knowledge and belief a true and correct translation of the authentic text of

European Patent No. 0 918 464

as granted by the European Patent Office.



.....  
(Helmut Madl)

December 27, 2001

Description

5 The present invention relates to a process for preparing  
decaseinated colostral milk products in accordance with claim 1, a  
colostral milk product in accordance with claim 10, a beverage  
containing colostral milk products in accordance with claim 15, and the  
use of colostral milk products in accordance with claims 16 and 17.

10 It has been known for some time now that the colostrum - i.e. the  
first milk - of all mammals including humans contains valuable  
ingredients which protect the neonates against infections and possess  
further favorable effects.

15 Thus for example EP-A-0 173 999 describes a process for  
preparing immunoglobulins from bovine or human colostral milk wherein  
an immunoglobulin fraction is obtained from bovine or human colostral  
milk, which is suited for the treatment or prophylactic treatment of  
bacterial and viral intestinal infections both in human and veterinary  
20 medicine.

Thus it has been found, for example, that the colostral  
immunoglobulins were effective against the bacteria: Escherichia coli,  
Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella, staphylococci, enterococci and  
25 streptococci, and against the viruses: varicella virus, cytomegalovirus,  
rubella virus, herpes virus and Rotavirus(?).

30 A like colostral globulin fraction was obtained by working up  
colostral milk while precipitating the caseins at a pH of from 4.0 to 5.5  
and subsequent filtering out of the casein cake by tangential filtration  
and subsequent ultrafiltration with a separation threshold of 5,000 to  
80,000 Dalton.

35 As the microbial content in the raw colostral milk may be situated  
at  $10^6$  to  $10^8$  germs per milliliter, EP-A-0 471 890 envisions a process

for obtaining a filtration sterilized, casein-containing colostral milk wherein the raw colostrum is acidified to such an extent that the casein, which initially precipitates, is again solubilized and the obtained solution is then filtration sterilized.

5

The teaching of EP-A-0 471 890 starts out from the circumstance that casein itself has favorable, therapeutically applicable properties which in particular support the effect of immunoglobulins in 10 gastrointestinal disturbances. In accordance with this prior art, for example opiate-like agents bringing about an inhibition of peristalsis and an enhancement of electrolyte and water resorption are released from the casein. In accordance with the teaching of EP-A-0 471 890 it is therefore desirable to modify the colostral milk as little as possible with regard to its protein composition inasmuch as it has a virtually optimal 15 composition for the prophylactic treatment and the therapy of gastrointestinal infections and disturbances.

In addition, WO 95/10192 describes a nutritional beverage on the basis of colostrum, which improves physical functional capacity and 20 recovery.

Such a beverage is prepared by defatting of the colostrum and subsequent precipitation and filtering out of the casein, and filtration sterilization of the obtained colostrum whey.

25

A like colostral milk product does, however, have the drawback that many favorable ingredients of the colostrum, such as the content of growth factors, e.g. IGF-1, IGF-2 or TGF- $\beta$  is reduced due to precipitation of the casein, and the yield of such a colostral milk product 30 in relation to the raw colostrum accordingly is only scant, while particular growth factors such as IGF-2 and TGF- $\beta$  are not even detectable any more.

Starting out from this prior art, it was therefore the object of the 35 present invention to furnish a process allowing to produce a largely

decaseinated colostral milk product which in particular contains as quantitatively as possible the growth factors contained in colostrum.

5 This object is attained by the features of claim 1 in terms of product technology, by the features of claims 10 and 15 in terms of a product, and by the features of claims 16 and 17 in terms of use.

10 Due to the fact that the casein is acidified so as to remain in solution, and subsequently an ultrafiltration with an exclusion molecular mass of approx.  $10^6$  Dalton is performed, the raw colostrum is freed of casein on the one hand. This is particularly desirable for allergy and neurodermatitis sufferers because casein may have undesirable side effects for this group of persons. On the other hand, a content of growth factors, in particular of IGF-1, of up to approx. 95% relative to 15 the content of the raw colostrum is surprisingly achieved by the ultrafiltration.

20 It is particularly surprising in the process of the invention that casein, with a molecular mass of approx.  $150 \times 10^6$  Dalton and its huge surface area, can be separated out by way of an ultrafiltration, with the desired low-molecular constituents of colostrum, such as growth factors and peptides, passing over into the filtrate nearly quantitatively, and thus without being bound to the huge surface area of the casein.

25 A colostral milk product prepared by means of the process according to the invention is useful for many applications in the fields of therapy and food supplements. Thus it was, for example, found in examinations of competitive sports practitioners that the creatirkinase in serum - an indicator for physical strain - is significantly lower when the 30 test persons had ingested the colostral milk product according to the invention in solid or liquid form, both regularly over an extended period or immediately before intense physical strain.

Concerning this mechanism it is to be said - without being limited 35 to this - that creatirkinase is released by muscle cells whenever muscle

cells are impaired in some form or other. Such impairment always occurs, for example, after extreme physical strains, or also concurrently with pathological developments such as cardiac infarction or muscle disorders. It has in the meantime been shown in several studies, among 5 them a double blind study carried out on the Finnish skiing team during the Olympic Winter Games in Lillehammer, that colostrum milk products lower the concentration of free creatinkinase in serum by 30 to 40 per cent, whereby the functional capacity is preserved for significantly longer and the period of regeneration, i.e. the refractory state of the 10 muscular apparatus, is shortened noticeably.

Moreover it is known from in-vitro studies that the colostrum supports viability and growth of various cell types in the cell culture because it essentially includes four main fractions, namely:

15 a growth factor fraction, an immunoglobulin fraction, an enzyme protein fraction, and a vitamin and peptide fraction.

It is furthermore known from examinations of the colostrum that 20 these essential constituents of colostrum substantially reach their peak at calving, only to already have lost more than half of its content of essential constituents 6-12 hours after birth and to then decline steadily over the following few days, with only traces being present after 3-4 days.

25 It has furthermore been found that colostrum products may readily be administered to athletes on the occasion of sports events as they do not contain any doping substances.

30 Moreover it has been found that the colostral milk product of the invention may be employed as a medicament, food supplement or cosmetic preparation, and also as an additive for medicaments, food supplements, beverages or cosmetic preparations.

Besides application in the field of sports and extreme sports, excellent therapeutic successes were found in the treatment of neurodermatitis. To this end, it was preferred to enclose the colostral milk product of the invention in liposomes, to be mixed into a cream 5 base and applied on the affected skin portions of patients suffering from neurodermatitis.

In addition, the colostral milk product of the invention was administered in the form of a beverage.

10

The group of patients included 20 persons suffering from neurodermatitis symptoms in adulthood, particularly also at the elbows. The patients did not take any medicaments but treated the affected skin areas with a cream that contained the colostral milk product of the 15 invention. The concentration of the colostral milk product in the cream was approx. 10% by weight. As a cream base there served e.g. soybean oil, tegomuls, vitamins E + A, cholesterol, HSA [human serum albumin], contrex, carotene DF + HF, orange blossom oil, melissa oil, mandarin oil, neroli oil, aqua dest.. As an alternative, neurodermatitis 20 may also be treated with a liposome cream, the liposomes of which contained the colostral milk product of the invention. The concentration of liposomes in the cream base (e.g. soybean oil, tegomuls, vitamins E + A, cholesterol, HSA, contrex, carotene DF + HF, orange blossom oil, melissa oil, mandarin oil, neroli oil, aqua dest.) was approx. 0.1 ml/g or 25 10% of liposomes.

The treatment was continued through 14 days and then inspected by the attending physician. Here it was found that 18 of 20 patients showed a nearly 90-% remission of the neurodermatitis symptoms. Both 30 the liposome cream and the orally administered colostral milk product beverage were then discontinued for 14 days, and the neurodermatitic rashes were again inspected by a physician. At this time it was found that all patients having shown major remissions of the cutaneous symptoms after the first colostral milk product treatment period now 35 again suffered of pronounced neurodermatitic eczema.

Subsequently a treatment period of 14 days was again scheduled, during which the affected skin portions were again treated with the cream or liposome cream containing the colostral milk product of the invention enclosed in liposomes, and supportively 10 ml per day of a colostral milk product beverage was administered, after which the cutaneous symptoms were again inspected by a physician.

Here it was found that 17 from among the 20 test persons participating in the study again showed a clear remission of the neurodermatitic eczema.

From this cross-over study it is clearly recognizable that the improvement of the neurodermatitic cutaneous symptom is due to the applied colostral milk product of the invention.

First studies conducted over a longer period of approx. 6 months also show that the colostral milk product of the invention, preferably in the form of a dermatic, in particular of a cream, lotion or ointment, is suited as a long-term therapeutic for the cutaneous symptoms of neurodermatitis.

In addition, a control study was carried out with placebo liposome cream, in which the cream base was the same as in the test group, with the liposomes, however, containing nothing but physiological saline solution. As an additional beverage dose, decaseinated milk was administered instead of the colostral whey of the invention.

Among the control group of 15 test persons with neurodermatitic cutaneous symptoms, only two showed significant improvements of the cutaneous symptoms after a 14-day treatment interval.

Through this placebo-controlled experiment the effectiveness of the colostral milk product of the invention is corroborated further.

Besides the stamina-enhancing effect that was already mentioned and the favorable effect on the recovery phase of muscles and the above ascertained effect for neurodermatitis, the colostral milk product of the invention may furthermore be used as an ingredient of baby food, 5 dietetic food, clinical food, in particular food for tube feeding, and with rheumatoid conditions, allergies, in particular hay fever, pollen allergies, cardiac infarctions and muscle ailments during rehabilitation. These effects are particularly evident through lowering of creatinkinase, which is an indication for a recovery phase of the muscular apparatus. It was 10 moreover found that the colostral milk products of the invention are suited for supporting treatments of liver and bone ailments.

In addition, the colostral milk product of the invention also has a favorable effect for the prophylactic treatment and support of viral, 15 bacterial and mycotic infections, and in general for supporting and strengthening the immune system, which is explained through the elevated content of immunoglobulins, particularly IgG, IgA, IgE and IgM. TGF- $\beta$  furthermore plays a not unimportant role in the immune system because TGF- $\beta$  acts on the  $\beta$ -lymphocytes and brings about a switch 20 from IgE to IgA and has an effect on immunostimulation.

It has moreover been found that the colostral milk product of the invention also has favorable effects on wound healing, particularly in post-operative care, or also minor injuries in the case of oral and 25 additionally local topical application.

The subclaims constitute preferred embodiments of the present invention.

30 Further advantages and features result from the description of exemplary embodiments.

Example 1

20  $\ell$  of defatted bovine colostral milk, obtained during the first 24 hours after calving, were brought to pH 2.54 at + 4°C by addition of 5 60 mMol of EDTA and subsequently 365 ml of HCl. This bovine colostral milk having a lowered pH was subsequently subjected to ultrafiltration with an exclusion molecular mass of 1,000,000 Da, where the 10 temperature was kept constant at + 4°C to + 8°C. Here a filter module by the company Millipore 1000 KD of cellulose acetate was used for its low protein binding. Hereby 10  $\ell$  of permeate was obtained. The yield 15 was 50% when proceeding in this manner. After ultrafiltration, the clear permeate was raised to pH 6.2 with 250 ml of NaOH. The slight turbidity occurring in the process was eliminated by centrifugation. The permeate, which now was clear, was diluted with 10  $\ell$  of aqua dest. and subjected to another ultrafiltration with an exclusion molecular mass 20 of 1000 Da so as to remove the salt engendered by lowering and subsequently raising the pH. This also results in a concurrent desugaring. The bovine colostral milk product was again kept constant at a temperature of + 4°C to + 8°C and subjected to ultrafiltration until the starting quantity of 10  $\ell$  of retentate was reached. 25 This retentate was filtration sterilized in accordance with a conventional process at 0.22  $\mu\text{m}$ . The use of prefilters was not necessary. The product could easily be filtration sterilized. Subsequently an analysis was drawn up.

25

The colostral milk product obtained by the process according to the invention had the following analytically determined composition in accordance with Table 1.

30

What is particularly conspicuous is the high proportion of immunoglobulins and growth factors, in particular of IGF-1.

35

A like colostral milk product may be used directly as a beverage or may be added to various foodstuffs, thus for example also to pastry and confectionery, in particular energy-containing bars, preferably to so-

called power bars. The addition to pastry and confectionery or bars is preferably carried out after spray-drying or freeze-drying.

**Table 1**

5

Energy content	80.0 kJ/100g
pH	6.16
Osmolality	264.0 mOsm/kg
Total protein	0.3 g/l
Dry substance	5.24 g/l
Ash	0.68 mg/100 ml
Lactose	0.2 mg/100 ml
Glucose	10.0 mg/100 ml
Total carbohydrate	20.0 g/l
Fat	<0.03 mg/100 ml

***VITAMINS***

Vitamin A	<150.0 µg/100 ml
Thiamine (vit. B1)	63.5 µg/100 ml
Riboflavine (vit. B2)	620.0 µg/100 ml
Pyridoxine (vit. B6)	3500.0 µg/100 ml
Cobalamine (vit. B12)	0.034 µg/100 ml
Folic acid	2.65 µg/100 ml
Vitamin C	270.0 µg/100 ml
Cholecalciferol (vit. D3)	0.28 µg/100 ml
Tocopherol (vit. E)	30.0 µg/100 ml
Vitamin K	0.054 µg/100 ml
Ubiquinone (vit. Q 10)	5.4 µg/100 ml

***IONS***

Sodium (Na)	943.7 mg/l
Potassium (K)	1883.5 mg/l
Calcium (Ca)	490.52 mg/l

Magnesium (Mg)	147.98 mg/l
Iron (Fe)	0.02 mg/l
Copper (Cu)	0.004 mg/l
Zinc (Zn)	0.30 mg/l
Chromium (Cr)	0.0014 mg/l
Phosphorus (P)	498.0 mg/l
Selenium (Se)	0.018 mg/l

***ORGANIC MOLECULES***

Creatinine	17.2 mg/l
------------	-----------

***FREE AMINOACIDS***

Alanine	6.60 mg/l
Arginine	0.0056 mg/l
Tryptophan	2.66 mg/l
Cystine	<0.27 mg/l
Methionine	1.03 mg/l
Phosphoserine	1.05 mg/l
Taurine	<0.363 mg/l
Phosphoethanolamine	7.31 mg/l
Asparagic acid	4.85 mg/l
Threonine	0.00014 mg/l
Serine	4.85 mg/l
Glutamic acid	9.44 mg/l
Glutamine	7.99 mg/l
Proline	7.37 mg/l
Glycine	4.85 mg/l
Alanine	6.6 mg/l
Citrulline	1.05 mg/l
Valine	11.13 mg/l
Isoleucine	4.85 mg/l
Leucine	9.44 mg/l
Tyrosine	3.26 mg/l

Phenylalanine	4.95 mg/l
$\beta$ -Alanine	<0.27 mg/l
$\beta$ -Aminoisobutyric acid	1.03 mg/l
Ornithine	0.53 mg/l
Lysin	7.99 mg/l

### ***IMMUNOGLOBULINS***

IgG	98.0 mg/100 ml
IgA	3.0 mg/100 ml
IgM	2.0 mg/100 ml
IgE	0.026 $\mu$ g/100 ml

### ***NATURAL GROWTH FACTORS***

IGF-1 (sulfation factor C)	380.0 ng/ml
IGF-2	242.0 ng/ml
TGF- $\beta$	35.0 ng/ml

### **Example 2**

5

pH lowering, ultrafiltration, pH increasing and centrifugation were performed as in Example 1. After that 10  $\ell$  of aqua dest., which had also been brought to pH 2.54 beforehand, was added in order to raise the yield. Ultrafiltration was continued, and again 10  $\ell$  of permeate was obtained. This permeate was subjected to ultrafiltration, together with the permeate of the 1st ultrafiltration and additional 10  $\ell$  of aqua dest., with an exclusion molecular mass of 500 Da, for which purpose an ultrafiltration membrane by the company Amicon was used. Here, too, the temperature was maintained constant at + 4°C to + 8°C.

10 15 Ultrafiltration was continued until 15  $\ell$  of retentate remained. Hereby the yield could be raised to 75%. This retentate was filtration sterilized in accordance with a conventional process at 0.22  $\mu$ m. It was not necessary to use prefilters. The product could easily be filtration

sterilized. Subsequently an analysis was drawn up. The results are shown in Table 2.

Comparative Example 1

5

20 l of defatted colostral milk was heated slightly (approx. 38°C) and the pH lowered to 4.5 with 240 ml of HCl. The casein lumped in the process and could easily be removed with the aid of a sieve and subsequent centrifugation. A turbidity of the whey could not be avoided.

10 After this the whey was subjected to an ultrafiltration with an exclusion molecular mass of 1,000,000 Da, for which purpose a module by the company Millipore was used. 7 l of permeate was obtained, which was taken to pH 6.2 with the aid of 80 ml of NaOH. Again a slight turbidity occurred which could be removed by one centrifugation. The permeate 15 was filtration sterilized in accordance with a conventional process at 0.22 µm. It was not necessary to use prefilters. The product could easily be filtration sterilized. Subsequently an analysis was drawn up. The results are shown in Table 2.

20

Comparative Example 2

20 l of defatted colostral milk was heated slightly (approx. 38°C) and the pH lowered to 4.5 with 240 ml of HCl. The casein lumped in the process and could easily be removed with the aid of a sieve and

25 subsequent centrifugation. Subsequently the pH was again taken to 6.2 with 100 ml of NaOH and subjected to an ultrafiltration with an exclusion molecular mass of 1,000,000 Da, for which purpose a module by the company Millipore was used. 7 l of permeate was obtained, which was then filtration sterilized in accordance with a conventional 30 process at 0.22 µm. It was not necessary to use prefilters. The product could easily be filtration sterilized. Subsequently an analysis was drawn up. The results are shown in Table 2.

35

### Comparative Example 3

The pH of 20 l of defatted colostral milk was lowered to 4.5 at + 4°C to + 8°C with 240 ml of HCl. Here it was found that the casein only lumped insufficiently. It was not possible to obtain proper whey. The curdled casein was centrifuged out, and the remaining milk was subjected to an ultrafiltration with an exclusion molecular mass of 1,000,000 Da, for which purpose a module by the company Millipore was used. The permeate (8.5 l) obtained hereby was taken to pH 6.3 with 100 ml of NaOH, and the turbidity was again centrifuged out. The permeate was subsequently filtration sterilized in accordance with a conventional process at 0.22 µm. It was not necessary to use prefilters. The product could easily be filtration sterilized. Subsequently an analysis was drawn up. The results are shown in Table 2.

15

### Comparative Example 4

20 l of defatted colostral milk was ultrafiltrated directly, without pretreatment, with an exclusion molecular mass of 1,000,000 Da, for which purpose of module of the company Millipore was used. 10 l of permeate were obtained, which was then filtration sterilized in accordance with a conventional process at 0.22 µm. It was not necessary to use prefilters. The product could easily be filtration sterilized. Subsequently an analysis was drawn up. The results are shown in Table 2.

In Example 2 and in the comparative examples only the IGF-1 and TGF-β concentrations and the immunoglobulin G were determined, 30 which contained the following values:

35

Table 2

	IGF-1 (ng/ml)	TGF- $\beta$ (ng/ml)	IgG (mg/100 ml)
Example 2	371	30	87
Comparative example 1	81	traces	43
Comparative example 2	48	not detected	25
Comparative example 3	63	not detected	35
Comparative example 4	23	not detected	15

5 It was obvious from these results that a lowering of the pH with  
subsequent ultrafiltration, without again raising the pH value prior to the  
ultrafiltration, shows better results than, e.g., ultrafiltration without  
lowering the pH. It was moreover found that lowering of the pH to  
approx. 4.5 equally does not bring about a satisfactory result because at  
a pH of 4.5 both not all proteins are solubilized, and during removal of  
10 the curdled casein many valuable proteins are carried along. Moreover  
the temperature also plays an important role, inasmuch as raising the  
temperature does not enable an ultrafiltration because the colostrum  
thickens in the process.

15 Only the processes indicated in Examples 1 and 2 showed  
satisfactory results.

Comparative Example 5

20 For further comparison with a product in accordance with the  
present invention it was started out from the same starting quantities of  
raw colostrum as in Example 1 and defatting performed in accordance  
with the above description, however the defatted raw colostrum was

then adjusted to a pH of approx. 4.5 and separated out with the aid of a microfilter having a pore size of approx. 5 µm. The obtained whey filtrate was then adjusted to a pH value of approx. 7 by adding sodium hydroxide, and subsequently filtration sterilized.

5

The analysis of such a colostral milk product in accordance with the prior art is shown in Table 3.

10 A comparison of the growth factors fraction shows an IGF-1 content which is lower by about 100%, and non-measurable values for IGF-2 and TGF-β. The colostral milk product of the invention thus has a significantly higher content of the growth factors which are necessary for the favorable pharmacological and vital effects and moreover shows a clearly higher immunoglobulin content.

15

**Comparative Example 5**  
**Table 3**

Energy content	80.0 kJ/100g
pH	6.55
Osmolality	418.0 mOsm/kg
Total protein	0.43 g/100 ml
Dry substance	5.24 g/100 ml
Ash	0.82 g/100 ml
Lactose	<0.5 g/100 ml
Glucose	1.91 g/100 ml
Total carbohydrate	4.0 g/100 l
Fat	<0.02 g/100 ml
IgG	0.039 g/100 ml

***VITAMINS***

Thiamine (Vit. B1)	40.0 µg/100 ml
Riboflavine (Vit. B2)	180.0 µg/100 ml

Pyridoxine (Vit. B6)	12.0 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$
Cobalamine (Vit. B12)	0.041 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$
Folic acid	4.2 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$
Nicotinamide	83.0 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$
Panthotenic acid	300.0 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$

#### *IONS*

Sodium (Na)	1498.9 mg/l
Potassium (K)	1599.2 mg/l
Calcium (Ca)	280.15 mg/l
Magnesium (Mg)	109.88 mg/l
Iron (Fe)	<0.22 mg/l
Copper (Cu)	<0.05 mg/l
Manganese (Mn)	<0.05 mg/l
Zinc (Zn)	<0.05 mg/l
Chromium (Cr)	<0.01 mg/l
Phosphorus (P)	480.0 mg/l
Selenium (Se)	0.002 mg/l

#### *ORGANIC MOLECULES*

Creatinine	34.4 mg/l
Creatine	127.0 mg/l

#### *FREE AMINOACIDS*

Arginine	5.6 mg/l
Tryptophan	<6.1 mg/l
Cystine	<0.7 mg/l
Methionine	1.0 mg/l
Phosphoserine	9.06 mg/l
Taurine	115.0 mg/l
Phosphoethanolamine	27.37 mg/l
Asparagic acid	2.66 mg/l

Threonine	3.1 mg/l
Serine	5.04 mg/l
Glutamic acid	37.0 mg/l
Glutamine	7.31 mg/l
Proline	7.37 mg/l
Glycine	4.85 mg/l
Alanine	6.6 mg/l
Citrulline	1.05 mg/l
Valine	11.13 mg/l
Isoleucine	4.85 mg/l
Leucine	9.44 mg/l
Tyrosine	3.26 mg/l
Phenylalanine	4.95 mg/l
β-Alanine	<0.27 mg/l
β-Aminoisobutyric acid	1.03 mg/l
Ornithine	0.53 mg/l
Lysin	7.99 mg/l
Histidine	1.4 mg/l

#### ***NATURAL GROWTH FACTORS***

IGF-1 (sulfation factor C)	70.0 ng/ml
IGF-2	not detected
TGF-β	not detected

#### **Example 3**

5        The colostral milk product in accordance with Example 1 is  
enclosed in liposomes in accordance with known processes and  
incorporated into a cream base (in the exemplary case soybean oil,  
tegomuls, vitamins E + A, cholesterol, HSA, contrex, carotene DF +  
HF, orange blossom oil, melissa oil, mandarin oil, neroli oil and aqua  
10      dest. with a liposome content of 0.1 ml/g (10%)).

Such a liposome cream was used to study its effects on wound healing and on neurodermatitic eczema.

5 As was already described at the outset, there appeared a significant improvement of the overall dermatological symptoms of neurodermatitis in a placebo-controlled cross-over study, with 20 test persons participating in the test group and 15 test persons participating in the control group.

10 Thus with the present invention for the first time a process is available whereby it is possible to transform the most important ingredients of colostral milk nearly quantitatively into a colostral milk which then has high contents of growth factors and immunoglobulins.

15 It is, of course, possible to specifically obtain desired fractions, for example fractions enriched in immunoglobulins and/or growth factor fractions which may then in a given case either be applied separately orally or, on the other hand, enclosed in liposomes to then be applied on 20 the skin in the form of creams, pastes or ointments or emulsions.

Such fractioning of the colostral milk product of the invention is achieved through further ultrafiltrations with defined exclusion molecular masses of 300 kDa and/or 150 kDa and/or 100 kDa and/or 50 kDa 25 and/or 30 kDa and/or 20 kDa and/or 10 kDa and/or 5 kDa and/or 1 kDa and/or 0.5 kDa.

Moreoever it may be advantageous to again raise the pH prior to a further fractioning step, e.g. when desalting is performed at 1 kDa or 30 0.5 kDa in order to re-enlarge the molecules so that they will not pass through the filter. Whether or not raising of the pH is to be performed thus largely depends on what is to be achieved through further fractioning steps.

What exclusion molecular mass is selected by the skilled person also depends on what further fractions he intends to obtain from the colostral milk product of the invention.

Claims

- 5 1. A process for preparing a colostral milk product which is at least largely  
decaseinated, wherein  
  
raw colostrum is defatted;
- 10 acidified such that casein remains in solution; and  
  
ultrafiltration with an exclusion molecular mass of approx. 10<sup>6</sup> Da is  
performed.
- 15 2. The process according to claim 1, characterized in that the obtained  
product is fractionated into different molecular mass ranges through  
additional ultrafiltration steps.
- 20 3. The process according to claim 2, characterized in that the additional  
ultrafiltration steps are performed with an exclusion molecular mass of  
300 kDa and/or 150 kDa and/or 100 kDa and/or 50 kDa and/or 30 kDa  
and/or 20 kDa and/or 10 kDa and/or 5 kDa and/or 1 kDa and/or  
0.5 kDa.
- 25 4. The process according to any one of claims 1 to 3, characterized in that  
after the first ultrafiltration step and after the additional ultrafiltration  
steps, the pH value is adjusted to the pH value of the raw colostrum, in  
particular to a pH of approx. 3.0 to 6.9, preferably approx. 4.0 to 5.5,  
more preferably approx. 4.6.
- 30 5. The process according to any one of the preceding claims,  
characterized by use of hydrochloric acid, phosphoric acid, lactic acid  
and/or citric acid for acidification and for pH adjustment.
- 35 6. The process according to any one of the preceding claims,  
characterized in that the respective obtained products are desalted by

reverse osmosis, by ultrafiltration with approx. 1 kDa or approx. 0.5 kDa and/or by dialysis.

7. The process according to any one of the preceding claims, characterized in that the products are desugared, with desugaring being performed enzymatically and/or through ultrafiltration.
8. The process according to any one of the preceding claims, characterized in that additives, in particular vitamins, flavoring agents, flavor improving agents, preservatives, etc. are added to the obtained product.
9. The process according to any one of the preceding claims, characterized in that the obtained products are sterilized, in particular filtration sterilized.
10. A colostral milk product which is at least largely decaseinated,  
**characterized in that**  
it is obtainable through a process according to at least one of claims 1 to 9.
11. The colostral milk product according to claim 10, characterized in that it contains at least approx. 75 ng/ml of IGF-1.
12. The colostral milk product according to claim 10 or 11, characterized in that relative to the raw colostrum it contains approx. 50 to 95%, in particular approx. 60 to 95%, preferably approx. 70 to 95%, more preferably approx. 80 to 95%, in a particularly preferred manner at least approx. 90% of the growth factors present in the raw colostrum.
13. The colostral milk product according to claim 10 to 12, characterized in that it is of bovine or equine origin.

35

14. The colostral milk product according to any one of claims 10 to 13, characterized in that it is present in liquid, solid, pasty or microencapsulated form, in particular enclosed in liposomes.
- 5 15. Beverage, characterized in that it contains a colostral milk product in accordance with at least one of claims 10 to 14.
- 10 16. Use of a colostral milk product according to at least one of claims 10 to 14 for preparing a medicament, food supplement or cosmetic preparation.
- 15 17. Use of a colostral milk product according to at least one of claims 10 to 14 as an additive for medicaments, food supplements, beverages or cosmetic preparations.
- 20 18. Use according to claim 17, characterized in that the colostral milk product is used as an ingredient of baby food, dietetic food, clinical food, in particular food for tube feeding.
- 25 19. Use according to claim 17, characterized in that the colostral milk product is used for preparing a medicament for at least supporting treatment of neurodermatitis, wound healing, rheumatoid conditions, allergies, in particular hay fever, pollen allergies; cardiac infarctions and muscle ailments during rehabilitation, and for supporting treatment of liver and bone ailments.
- 30 20. Use according to claim 17, characterized in that the colostral milk product is used for preparing a medicament for the protection of muscle cells, particularly in the field of sports, for shortening the muscular recovery period, for prophylaxis and support in viral, bacterial and mycotic infections, and for fortifying the immune system.

21. Use according to claim 17, characterized in that the colostral milk product is used as an additive for pastry and confectionery, in particular energy-containing bars, granola bars or power bars.